

Área : Biotecnologia

COMPARAÇÃO DOS GENES EXPRESSOS POR CULTIVARES DE *Hevea brasiliensis* QUE APRESENTAM RESISTÊNCIA DURÁVEL E SUSCEPTIBILIDADE AO *Microcyclus ulei*.

Sizenando Andrade Junior^{1a}; Leandro Araújo de Sousa^{1b}; Nicolas Carels¹; Saulo Cardoso²; Antonio Carlos da Silva Rodrigues^{1c}; Robson José Costa Dias¹; Júlio César de Mattos Cascardo¹; Dominique Garcia³

O Mal-das-folhas provocado pelo fungo ascomiceto *Microcyclus ulei* é responsável pelo baixo desenvolvimento da heveicultura na América Latina. Várias seringueiras nativas da Amazônia apresentam bom comportamento quando cultivadas em áreas de alta pressão de *M. ulei*. Porém, em alguns anos, essas resistências podem ser contornadas pelo fungo (Lima et al, 1992; 1994, Le Guen et al., 2007). Quando se trata de doenças de plantas perenes, os melhoristas procuram selecionar resistências duráveis. Essa resistência existe no cultivar MDF180 e se caracteriza por uma limitação da fase assexuada do fungo (fraca esporulação) e a ausência da fase sexuada (ausência de estromatas). Para identificar genes candidatos expressos relacionados com a resistência ou susceptibilidade da seringueira ao mal-das-folhas, duas bibliotecas de cDNA foram construídas com folhas coletadas entre 6 e 72 horas após infecção nos cultivares MDF180 e PB314 (cultivar susceptível). O RNA total foi extraído com o kit Concert® plant RNA extraction (Invitrogen) de folhas inoculadas e não inoculadas com esporos de *M. ulei*. A partir dos cDNAs SMART, duas bibliotecas substrativas (infectado contra sadio) foram obtidas usando PCR-Select cDNA Subtraction kit (Clontech). As seqüências selecionadas foram tratadas para eliminar: (i) os fragmentos que possuíam um score inferior a Phred 10, (ii) a seqüência do vector, (iii) as terminações polyA/polyT e (iv) os primers. A tabela 1 indica o número de seqüências analisadas, o número de seqüências de qualidade acima de 90 pb (Phred>10), o número de contigs e de singletons.

Tabela 1:

Biblioteca	Nº de seqüências	Seqüências (Phred>10)	Contig	Singletons	Redundância
MDF 180	1776	1078	146	205	68%
PB 314	1849	1096	125	631	31%

¹ Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz – BA. sizenando.andrade@gmail.com; ² Plantações Michelin da Bahia, Ituberá, BA. saulo.cardoso@br.michelin.com; ³ Centre de Coopération International en Recherche Agronomique et Développement (CIRAD), UMR Développement et Adaptation des Plantes, Montpellier, França. dominique.garcia@cirad.fr

^a Bolsista de Mestrado FAPESB; ^b Bolsista de IC FAPESB; ^c Bolsista apoio técnico FAPESB; Trabalho executado com suporte financeiro da FAPESB, do CNPq, das Plantações Michelin da Bahia, do MAE e do CIRAD.

Usando BlastX com GenBank NR, Pfam, GO, não apresentaram homologia (no hit) 128 seqüências (sendo 64 singletons e 26 contigs) da biblioteca MDF180 e 208 seqüências (sendo 180 singletons e 28 contigs) da biblioteca PB314. Embora observado um maior número de seqüências expressas com homologia na biblioteca PB314, as proporções de cada grupo funcional não são significativamente diferentes entre as bibliotecas MDF180 e PB314. Enfim, a comparação das funções dos genes expressos no grupo da reação de defesa/stress mostra diferenças importantes como: (i) a presença de vários tipos de glucanase somente na biblioteca MDF180, que poderiam estar dificultando a colonização dos tecidos foliares pelo fungo, (ii) a presença de um complexo de genes expressos no PB314 (MnSOD, Cu/ZnSOD, thioredoxin peroxidase, catalase, germin-like protein) visando a diminuição do stress oxidativo conhecido como evento importante na reação de hipersensibilidade. Esses resultados preliminares estão sendo comprovados por análises de expressão por Northern Reverse (macroarranjos).

Le Guen, V., D. Garcia, Mattos C.R.R., Doaré F., Lespinasse D. and Seguin M. 2007. Bypassing of polygenic *Microcyclus ulei* resistance in rubber tree, analyzed by QTL detection. New Phytologist. 173 : 335-345.

Lima, M.P.I.M., L. Gasparotto, A.E. Araujo and A.R. Dos Santos. 1992. Surto do mal-das-folhas (*Microcyclus ulei*) em seringal enxertado com copa do clone IAN 6158 em Manaus – AM. Fitopatologia Brasileira 17:192.

Lima, M.P.I.M., L. Gasparotto, A.E. Araujo and A.R. Dos Santos. 1994. Caracterização fisiológica de um isolado de *Microcyclus ulei* virulento ao clone IAN 6158. Fitopatologia Brasileira 19:216.

¹ Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz – BA. sizenando.andrade@gmail.com; ² Plantações Michelin da Bahia, Ituberá, BA. saulo.cardoso@br.michelin.com; ³ Centre de Coopération International en Recherche Agronomique et Développement (CIRAD), UMR Développement et Adaptation des Plantes, Montpellier, França. dominique.garcia@cirad.fr

^a Bolsista de Mestrado FAPESB; ^b Bolsista de IC FAPESB; ^c Bolsista apoio técnico FAPESB; Trabalho executado com suporte financeiro da FAPESB, do CNPq, das Plantações Michelin da Bahia, do MAE e do CIRAD.